

На правах рукописи

Егорова Елена Владимировна

**ПАТОГЕНЕЗ ХРОНИЧЕСКИХ РЕЦИДИВИРУЮЩИХ
РИНОСИНУСИТОВ И ИХ ИММУНОКОРРИГИРУЮЩАЯ ТЕРАПИЯ**

14.01.03 – болезни уха, горла и носа

14.03.03 – патологическая физиология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Чита – 2015

Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия» Министерства Здравоохранения Российской Федерации

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, профессор **Карпищенко Сергей Анатольевич**

доктор медицинских наук, профессор **Цыбиков Намжил Нанзатович**

Официальные оппоненты:

Пацинин Александр Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, профессор кафедры оториноларингологии

Блоцкий Александр Антонович – доктор медицинских наук, профессор, ГБОУ ВПО «Амурская государственная медицинская академия» Минздрава России, заведующий кафедрой оториноларингологии.

Цырендоржиев Дондок Дамдинович – доктор медицинских наук, профессор, ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, профессор кафедры патологической и клинической патофизиологии, ФГБУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунобиологии стволовой клетки.

Ведущая организация: ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт уха, горла, носа и речи» Минздрава России, г. Санкт-Петербург.

Защита состоится « 23 » апреля 2015 года в _____ на заседании диссертационного совета Д 208.090.04 при ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации (197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6 – 8, тел. 8(812)4997104, e-mail: usovet@spb-gmu.ru) в зале заседаний Ученого Совета.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГБОУ ВПО «Первого Санкт-Петербургского университета им. И.П. Павлова» Минздрава России и на сайте <http://spb-gmu.ru>

Автореферат разослан « ____ » _____ 2015 г.

Ученый секретарь
Диссертационного Совета
доктор медицинских наук, доцент

Ткаченко Т.Б.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Заболевания околоносовых пазух (ОНП) относятся к наиболее часто встречающейся патологии в оториноларингологии, чему способствует современная экологическая обстановка, широкая распространенность аллергических и вирусных респираторных заболеваний, снижение местного и общего иммунитета. В мире отмечается тенденция к увеличению заболеваемости хроническим синуситом (ХС), и в том числе – хроническим полипозным риносинуситом (ХПРС) (Шулаков В.В. и соавт., 2011; Пискунов Г.З., 2012; Косяков С.Я., 2013; Сипкин А.М., 2013; Benninger M.S., 2003; Fokkens W., 2005). ХПРС встречаются в основном у больных старше 30 лет. (Безрукова Е.В., 2009).

В развитии хронического гнойного риносинусита (ХГРС) важное место отводится состоянию естественного соустья синуса, обеспечивающего аэрацию и дренаж (Пискунов В.С., 2006). При патологических изменениях в области соустья, обусловленных воспалительным процессом, анатомическими особенностями внутриносовых структур формируется хронический воспалительный процесс слизистой оболочки синуса, сопровождающийся ее структурными изменениями (Азнабаева Л.Ф. и соавт., 2007; Крюков А.И. и соавт., 2010; Пухлик С.А., 2010). Известны и другие основания хронизации воспалительного процесса: бактериальная и грибковая инфекция (Крюков А.И., 2010; Шулаков В.В. и соавт., 2011; Douglas R., 2007), а также суперантигенная стимуляция иммунной системы (Волков А.Г., 2005; Стагниева И.В., 2013), аллергия и иммунодефицит (Палажук О.А., 2009; Туровский А.Б., 2013; Corren J., 2004), но причина персистенции инфекции у конкретного пациента часто не установлена.

На основании клинических симптомов ХРС делят на два типа: хронический риносинусит с назальным полипозом (ХРС+НП) и хронический риносинусит без полипоза (ХРС-НП) (по данным EPOS, 2008). Далек не всегда ХРС+НП сопровождается IgE опосредованными реакциями и представляет собой неатопический фенотип. Клинические проявления этой формы синусита характеризуются типичными иммунными нарушениями. Так, если при ХРС+НП находят, как правило, выраженное эозинофильное воспаление (Ramanathan M.J., 2008), то у больных с ХРС-НП – нейтрофильное. Наиболее

существенным различием является гиперпродукция γ -интерферона и фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α) при ХРС-НП (Desrosiers M.Y., 2008).

Одной из наиболее сложных форм ХРС, как в плане клинического течения, так и в плане лечения, является полипозный риносинусит (ПРС). Это полиэтиологическое заболевание со сложным, пока не изученным патогенезом. На сегодняшний день предложено множество теорий этиологии и патогенеза ПРС, но ни одна из них не может полностью объяснить механизмы формирования этого заболевания (Пискунов Г.З., 2003; Волков А.Г., 2007; Пискунов, С.З., 2013.).

Лечение больных хроническим гнойным риносинуситом (ХГРС), не поддающимся медикаментозному и хирургическому лечению, является глобальной проблемой (Сирак С.В., 2008; Мокроносова М.А., 2010). Терапия ХГРС является комплексной и включает в себя: орошение полости носа соляными растворами, применение деконгестантов, назальных и системных кортикостероидов, антибиотикотерапию (Пискунов С.З., 2010; Саидов М.З., 2010; Desrosiers M.Y., 2009).

При неэффективности указанных мероприятий применяется эндоскопическая хирургия на околоносовых пазухах (Пискунов Г.З., 2008). Несмотря на вышеуказанные методы лечения, до сих пор остаётся группа пациентов, страдающих постоянными обострениями ХГРС. Зачастую, для контроля течения и профилактики рецидивов применяются массивные и длительные курсы антибиотикотерапии, которые, в свою очередь, вызывают множество осложнений: аллергические реакции, расстройства функции желудочно-кишечного тракта и печени, нефротоксичность, фотосенсибилизацию, эмболию, ототоксичность, резистентность к патогенным микроорганизмам (Лопатин А.С., 2011; Янов Ю.К., 2013).

В работах последнего десятилетия, изучающих патофизиологию заболеваний ЛОР-органов, все больший удельный вес приобретают взгляды на систему иммунитета как ключевое звено патогенеза (Марченко А.А., 2013; Огнивенко Е.В., 2008; Рыбак А.А., 2008;). Все более распространенным и принятым становится лечение ЛОР-патологии с использованием иммунокорректирующих препаратов (Земсков А.М., 2007). Иммунотерапию проводят как самостоятельную, так и в качестве пред- и послеоперационных этапов при хирургическом лечении в комплексной терапии, при лучевом- и химиовоздействии. Базой для проведения иммунотерапии служат

многочисленные научные исследования, которые касаются непосредственно разработки самих иммунокорректирующих препаратов (Смирнова В.С., 2003). Их использование представляет многообещающую перспективу. Теоретическими предпосылками применения иммуностимулирующих препаратов является изучение местных и общих иммунных реакций в контексте патогенеза заболеваний, а также лабораторная оценка их эффективности.

Однако, наряду с вышеперечисленным, продолжают оставаться неизвестными многие патофизиологические механизмы хронических воспалительных процессов в полости носа и околоносовых пазухах, среди которых определенное значение могут иметь: эндотелиальная дисфункция, белки теплового шока, нейронспецифическая енолаза, α -дефензины, про- и противовоспалительные цитокины и т.д. Не исключено, что в хронизации воспалительного процесса могут принимать участие аутоантитела к различным антигенам слизистой носа, образующиеся *in situ*, и, вероятно, инициирующие хронизацию воспалительного процесса в полости носа.

Все сказанное явилось основанием для изучения патогенетических механизмов формирования ХРС и влияния на них иммуномодулирующей терапии.

Цель исследования. Изучить патофизиологические механизмы развития хронического гнойного и гнойно-полипозного риносинусита и возможности иммунокорректирующей терапии.

Решались следующие задачи:

1. Определить содержание иммуноглобулинов классов А, М, G, G1, G2, G3, G4 и sIg А в сыворотке крови и назальном секрете у здоровых, а так же больных хроническими гнойными и гнойно-полипозными риносинуситами.
2. Изучить уровень цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 и ИФ α) и аутоантител к ним в сыворотке крови и носовом секрете у здоровых, а также больных хроническими гнойными и гнойно-полипозными риносинуситами.
3. Оценить содержание нейронспецифической енолазы и концентрацию аутоантител к ней и миелин-ассоциированному гликопротеину в сыворотке крови и назальном секрете у здоровых и больных хроническими гнойными и гнойно-полипозными риносинуситами.

4. Проанализировать содержание эндотелина и аутоантител к нему в сыворотке крови и носовом секрете у здоровых и больных хроническими риносинуситами.
5. Выявить изменения уровня белка теплового шока-70 и аутоантител к нему в сыворотке крови и носовом секрете у здоровых и больных хроническими гнойными и гнойно-полипозными риносинуситами
6. Проследить динамику α -дефензинов в сыворотке крови и назальном секрете у здоровых и больных хроническими риносинуситами и определить фагоцитарную активность нейтрофилов назального секрета у лиц контрольной группы и больных хроническими риносинуситами.
7. Изучить прокоагулянтную активность назального секрета у здоровых и больных хроническими риносинуситами, а также экспрессию тканевого фактора клетками слизистой носа.
8. Оценить уровень исследуемых антигенов и аутоантител к ним в сыворотке крови и назальном секрете и сравнить клиническую эффективность при стандартной и иммунокорректирующей терапии.

Научная новизна.

Впервые установлено, что в составе слизи в полости носа определяются: нейронспецифическая енолаза (NSE), белок теплового шока (HSP-70), α -дефензины (HNP 1-3), эндотелин и антитела к миелин-ассоциированному гликопротеину.

Показано, что как у здоровых лиц, так и больных хроническими гнойными риносинуситами в назальном секрете определяются аутоантитела класса sIgA к различным цитокинам, NSE, эндотелину, HSP-70 и HNP 1-3.

Доказано, что в механизмах развития хронических риносинуситов принимают участие цитокины: ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 и ИФ α .

Впервые показано участие эндотелина, HSP-70, HNP 1-3, NSE в патогенезе данного заболевания.

Выявлено, что в сыворотке крови аутоантитела к цитокинам (ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 и ИФ α), эндотелину, HSP-70, HNP 1-3 и NSE представлены Ig G класса, а в назальном секрете – sIg A.

Доказано, что содержание про- и противовоспалительных цитокинов, иммуноглобулинов всех классов не равнозначно в назальном секрете и сыворотке крови,

что определяется как селективностью гематоназального барьера, так и местными резистентными механизмами.

Показано, что интактные лейкоциты, инкубируемые с назальным секретом, усиливают экспрессию и секрецию тканевого фактора, повышающего прокоагулянтные свойства слизи. Доказано, что это соединение визуализируется иммуногистохимическим методом не только моноцитами, а так же гранулоцитами и эпителиальными клетками слизистой полости носа.

Доказано, что местная резистентность носа в значительной степени определяется фагоцитарной активностью нейтрофилов, которая значительно усиливается после инкубации интактных лейкоцитов со слизью носа в условиях *in vitro*.

Доказано, что введение в пазухи носа взвеси аутолейкоцитов, предварительно активированных тимогеном экстракорпорально, сопровождается закономерными изменениями всех исследуемых показателей, свидетельствующих о развитии саногенетических реакций, что подтверждается клиническим улучшением течения воспалительного процесса в полости носа и околоносовых пазухах у больных хроническим гнойным риносинуситом.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Проведенное исследование позволило оценить роль про- и противовоспалительных цитокинов, эндотелина, белка теплового шока-70, нейронспецифической енолазы и антител к миелин-ассоциированному гликопротеину в патогенезе хронических риносинуситов, а также наметить пути дальнейшего изучения механизмов формирования хронического воспаления в полости носа и пазухах.

Обнаружены закономерные изменения содержания цитокинов, эндотелина, белка теплового шока-70, α -дефензинов, нейронспецифической енолазы и аутоантител к ним в назальном секрете, что сопровождается снижением местной резистентности, как основного фактора хронизации воспалительных процессов в полости носа и околоносовых пазухах.

Разработана схема местного лечения больных хроническими гнойными риносинуситами основанная на экстракорпоральной активации аутолейкоцитов тимогеном с последующим их введением в пазухи носа, что сопровождается инициацией саногенетических реакций и сокращением сроков лечения.

Подана заявка на патент РФ «Способ лечения хронических гнойных риносинуситов методом экстракорпоральной активации аутолейкоцитов крови тимогеном» (удостоверение на рационализаторское предложение № 1893).

Внедрение результатов.

Основные положения, вытекающие из проведенных исследований, внедрены в учебный процесс кафедр патологической физиологии и офтальмологии с курсом оториноларингологии ГБОУ ВПО Читинская Государственная медицинская академия. Результаты исследований внедрены в практическую работу оториноларингологических отделений НУЗ Дорожной клинической больницы г. Читы, ГУЗ Городской клинической больницы № 1 г. Читы, ГУЗ Амурской областной клинической больницы г. Благовещенска.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. В составе назального секрета содержатся иммуноглобулины классов А, М, G, G1, G2, G3, G4 и sIg A, цитокины (ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 и ИФ α), нейронспецифическая енолаза, эндотелин, белок теплового шока-70, α -дефензины и антитела к миелин-ассоциированному гликопротеину, которые обеспечивают резистентность полости носа и околоносовых пазух. При развитии хронического воспаления изменяется уровень всех исследуемых антигенов в носовой слизи.

2. В патогенез хронических риносинуситов включаются новые звенья, реализуемые аутоантителами класса sIgA в назальном секрете и класса IgG в сыворотке крови к исследуемым антигенам, что сопровождается образованием иммунных комплексов в слизи полости носа, которые усиливают местные воспалительные процессы.

3. Факторы назального секрета активируют клетки-резиденты слизистой полости носа: моноциты, нейтрофилы, а также эпителиоциты, что сопровождается усилением фагоцитарных реакций и экспрессией тканевого фактора.

4. Апробирован способ лечения хронических риносинуситов, заключающийся в экстракорпоральной активации аутолейкоцитов тимогеном с последующим введением в пазуху носа, что сопровождается снижением уровня провоспалительных цитокинов, α -

дефензинов, увеличением концентрации IgA, sIgA и уровня аутоантител в назальном секрете.

Апробация работы.

Материалы исследований доложены на VIII Всероссийской научно-практической конференции оториноларингологов (Москва, 2009), Международной научно-практической конференции «Питание и здоровье» (Алматы, 2010), III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Новосибирск, 2011), X региональной межвузовской научно-практической конференции молодых ученых (Чита, 2011), IV Международной конференции «Инновационные идеи и технологии» (Алматы, 2011), IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Новосибирск, 2012), IV Конгрессе хирургов Казахстана «Новые технологии в хирургии» (Алматы, 2013), 51-й Международной научной студенческой конференции «Студент и научно-студенческий прогресс» (Новосибирск, 2013), IX Международной научно-практической конференции «Новината за напреднали наука – 2013» (Белград, 2013), II Петербургском форуме оториноларингологов России (Санкт-Петербург, 2013), IX Międzynarodowej naukowo-praktycznej “Europejska nauka – 2013” (Польша, 2013), IX mezinárodní vědecko-praktická konference “Efektivní nastroye moderních věd – 2013” (Прага, 2013), Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої Всесвітньому дню здоров'я 2013 (Україна, 2013).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 42 научные работы, из них 15 статей в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 239 страницах машинописного текста, иллюстрирована 12 рисунками, 54 таблицами. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания клинического материала и методов исследования, собственных исследований, заключения, выводов и списка литературы, включающего 343 отечественных и 174 зарубежных источников.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В работе представлены результаты обследования 100 пациентов, которые находились на лечении в оториноларингологических отделениях НУЗ Дорожной клинической больницы и ГУЗ Городской клинической больницы № 1 г. Читы с 2008 по 2013 г. в

возрасте от 16 до 50 лет. После проведения всех этапов клинического и лабораторно-инструментальных исследований больным был поставлен диагноз хронического гнойного риносинусита без полипов или хронического гнойно-полипозного риносинусита с частыми рецидивами, в среднем от 2 до 3 раз в год.

Все пациенты были распределены на группы со следующими нозологическими формами: 46 больных ХГРС и 54 пациентов ХГПРС в стадии обострения. Контрольную группу составили 20 здоровых добровольцев в возрасте от 16 до 50 лет без соматической и ЛОР-патологии.

В исследование не включались больные моложе 16 и старше 50 лет, пациенты с артериальной гипертензией, заболеваниями сердца, сахарным диабетом, заболеваниями головного мозга, хроническим алкоголизмом, беременные, курящие, больные с нарушениями функций щитовидной железы, злокачественными новообразованиями, болезнями крови, хроническими заболеваниями внутренних органов, острыми респираторными заболеваниями, внутричерепными и орбитальными осложнениями, заболеваниями зубочелюстной системы, аллергией, тотальным полипозом полости носа. Всем больным проводилось стандартное оториноларингологическое обследование, включающее наружный осмотр, переднюю и заднюю риноскопию, фаринго-, ларингоскопию и отоскопию. Для уточнения диагноза использовали эндоскопическое исследование полости носа при помощи жестких эндоскопов с торцевой оптикой 0° и 30°, рентгенографию и компьютерную томографию околоносовых пазух по показаниям, а также бактериологическое исследование отделяемого из околоносовых пазух.

Клинико-иммунологические и другие исследования проводились до и после лечения. Критериями оценки результатов лечения явились: отсутствие жалоб на затруднение дыхания через нос, гнойных выделений из полости носа, головных болей, положительная динамика при рентгенологическом исследовании (отсутствие жидкости и полипозной ткани в ОНП), нормализация показателей периферической крови, уровня про- и противовоспалительных цитокинов, эндотелина и белков теплового шока.

Методы получения биологических материалов. Объектами исследований являлась кровь, плазма и сыворотка крови, моноциты, нейтрофилы, назальный секрет и эпителиоциты полости носа. Кровь забирали натошак из локтевой вены. Сыворотку, плазму и смывы полости носа получали традиционными методами. Стандартизацию

смыслов проводили путем «разбавления – концентрирования» со спектрофотометрическим контролем при длине волны 280 нм. Биологические жидкости получали одномоментно в день обращения или поступления в стационар, а также перед выпиской после окончания курса лечения, обычно на 5 – 7 день пребывания в стационаре. Все полученные образцы замораживали в пробирках типа Эппендорф и хранили до использования при температуре $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Интактные нейтрофилы и моноциты выделяли из стабилизированной крови общепринятыми методами.

Определение уровня иммуноглобулинов.

Концентрацию Ig классов A, M, G и его подклассов, а также sIgA определяли методом твердофазного ИФА реактивами ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск);

-цитокинов: ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 и ИФА в сыворотке крови и назальном секрете производили с использованием коммерческих наборов реагентов ТОО «Протеиновый контур-тест» (г. Санкт-Петербург);

-эндотелина 1-21: определяли методом твердофазного ИФА с использованием набора фирмы «Biomedica group» (Германия);

-нейронспецифической енолазы: исследовали в сыворотке крови и назальном секрете методом твердофазного ИФА реактивы фирмы «FUJIREBIO, Diagnostics, Inc» (Германия);

-АНТИ-MAG аутоантител: определяли с использованием тест-систем производства «BÜHLMANN anti-MAG ELISA» (Швеция);

-белка теплового шока (HSP-70): определяли моноклональными антителами методом ИФА «Assay Designs., USA» (Michigan);

- α -дефенинов: проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью реактивов фирмы «HyCult biotechnology» (Нидерланды).

Определение содержания аутоантител к различным антигенам проводили стандартным методом.

Исследование фагоцитарной активности нейтрофилов. Нейтрофилы из донорской крови вносили в пробирки в объеме 200 мкл (1 000 000 клеток в каждой аликвоте) и дополнительно вводили по 20 мкл назального секрета. В контрольные пробирки вместо носового секрета вводили 2 мл забуференного физиологического раствора. Определение

фагоцитарного числа (ФЧ) и фагоцитарного индекса (ФИ) проводили стандартным способом.

Определение прокоагулянтной активности назального секрета. В цитратную донорскую плазму в объеме 100 мкл вносили аликвоты назального секрета, смесь инкубировали 10 мин при комнатной температуре и определяли коагулологические показатели: активированное частичное тромбиновое время (АЧТВ), время рекальцификации и каолиновое время. Коагулологическую активность краткосрочной культуры моноцитов осуществляли по оригинальному методу. Моноциты по 100 000 в аликвотах по 200 мкл вносили в лунки интактных полистероловых планшетов. В контрольные лунки вводили по 100 мкл забуференного физиологического раствора, в другие контрольные лунки – протидиозан в концентрации 10 мкг/мл по 100 мкл (1 мкг на лунку). В опытные лунки в зависимости от цели эксперимента вводили исследуемые субстраты (по 100 мкл), иммунные комплексы в концентрации 10 мкг/мл в объеме 100 мкл. Затем инкубировали при 37°C в течение 2 часов, клетки ресуспендировали путем пипетирования и вносили в цитратную тест-плазму, а затем вводили 0,27% раствор хлорида кальция и регистрировали время свертывания плазмы или активированное частичное тромбиновое время (АЧТВ). Результат выражали в секундах.

Иммуноцитохимическое исследование отпечатков слизистой оболочки полости носа. Отпечатки со слизистой полости носа производили узкими стеклянными полосками ($d=6\text{см}$, $ш=1\text{см}$), которые прикладывали к слизистой оболочке переднего конца нижней носовой раковины и в дальнейшем полученный отпечаток подвергали иммуноцитохимическому исследованию. Иммуноцитохимическое исследование для качественного определения антигенов было выполнено с использованием типовых цитологических мазков-отпечатков со слизистой полости носа биотин-стрептавидиновым иммунопероксидазным методом с мышиными моноклональными антителами к тканевому фактору человека – TF (NF-9-10H10) производства Santa Cruz biotechnology (USA). Процедура иммунофенотипирования проводилась по протоколу DakoCytomation с влажной фиксацией, в смеси этанол-метанол и высокотемпературной демаскировкой антигенов в течение 10 (± 1) минут при температуре 95 – 99°C в фосфатно-солевом буфере. В дальнейшем, после инактивации активной эндогенной пероксидазы, срезы инкубировали с первичными антителами в разведении 1:100 на протяжении 50 мин при

комнатной температуре 20 – 25°C. В качестве вторичных антител использовали биотинилированные козы антимышинные антитела в составе системы визуализации LSAB Staining System (Santa Cruz biotechnology, USA). Последующая докраска срезов, в частности ядер клеток, осуществлялась водным раствором гематоксилина Гarrisона.

Методы комплексного лечения.

Стандартная консервативная терапия включала системное назначение антибиотиков широкого спектра действия (амоксиклава или цефтриаксона), антигистаминные препараты. По показаниям, выполнялась пункция гайморовой пазухи с промыванием синуса физиологическим раствором или наложение синус катетера-ЯМИК для эвакуации содержимого из других ОНП. Местно использовали сосудосуживающие препараты (назол или називин), ирригационную терапию 0,9% раствором натрия хлорида, топические кортикостероиды. После купирования гнойно-воспалительного процесса в пазухе больным проводилось физиотерапевтическое лечение.

Предложенный нами метод лечения основывался на способе терапии, разработанном Н.Ю. Логиной «Способ лечения хронических рецидивирующих заболеваний слизистой носа и околоносовых пазух методом эндоназальной аутолимфоцитотерапии» (патент RU 2403071 С1), включающем предварительное получение аутологических лимфоцитов из венозной крови больного, их культивирование совместно с иммуномодулятором и введение в придаточные пазухи носа, посредством заранее установленного ЯМИК-катетера, после предварительной эвакуации содержимого. Ввиду сложности и низкой экономической эффективности процесса получения аутологических лимфоцитов нами было предложено некоторое упрощение указанной методики, заключающейся в активации цельной крови тимогеном с последующим его введением в околоносовые пазухи.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью пакета статистических программ Statistica, версия 6,0, пакета программ Biostat и Microsoft Excel 2003. При сравнении показателей исследуемых групп использовались методы непараметрической статистики, в связи с ненормальным распределением значений в вариационных рядах. Числовые данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала с указанием точного значения статистической значимости (p). При сравнении двух независимых выборочных совокупностей по одному признаку использовался критерий Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Уровень иммуноглобулинов в сыворотке крови здоровых, больных ХГРС и ХГПРС

Установлено (таблица 1), что у больных ХГРС в сыворотке крови практически в 3 раза увеличено содержание IgA, в 2 раза – sIgA, а уровень Ig M, G общ и его подклассов не претерпевает серьезных изменений. Однако у больных с ХГПРС, наряду с повышением уровня IgA и sIgA, увеличивается содержание Ig M.

Таблица 1 - Содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови здоровых, больных ХГРС и ХГПРС (M ±SD)

Параметры г/л	Здоровые n=20	ХГРС n=46	ХГПРС n=54
Ig A	1,32±0,3	3,01±0,1 P<0,05	4,2±0,2 P1<0,05 P2<0,05
sIg A	0,05±0,07	0,1±0,02 P<0,05	0,2±0,04 P1<0,05 P2<0,05
Ig M	1,6±0,4	1,53±0,3 P□0,05	2,4±0,5 P1<0,05 P2<0,05
Ig G общ.	16,48±1,2	16,25±1,3 P□0,05	18,3±1,5 P1□0,05 P2□0,05
Ig G1	7,00±0,8	6,8±0,7 P□0,05	8,3±0,8 P1<0,05 P2<0,05
Ig G2	3,58±0,9	3,4±0,8 P□0,05	3,7±0,8 P1□0,05 P2□0,05
Ig G3	2,25±0,3	2,1± 0,25 P□0,05	2,3±0,27 P1□0,05 P2□0,05
Ig G4	3,08±0,6	3,2±0,71 P□0,05	3,5±0,61 P1□0,05 P2□0,05

Примечание: P – статистическая значимость различий между здоровыми и больными ХГРС, P1 – статистическая значимость различий между здоровыми и больными ХГПРС, P2 – статистическая значимость различий между больными ХГРС и ХГПРС.

Данный сдвиг отражает напряжение гуморального звена иммунитета, что и подтверждается клиническими данными. Больные предъявляли жалобы на головную боль, общую слабость, недомогание, слизисто-гнойные выделения из носа, затруднение носового дыхания и нарушение обоняния. Во время проведения эндоскопического осмотра отмечался отек слизистой полости носа, гнойные выделения и полипы, которые исходили в основном из под средних носовых раковин. При выполнении рентгенографии или компьютерной томографии придаточных пазух носа были выявлены следующие признаки воспаления – (уровень жидкости или тотальное затемнение околоносовых пазух, полипозная ткань). В общем анализе крови зарегистрировано повышение СОЭ и лейкоцитоз со сдвигом лейкоцитарной формулы влево.

В назальном секрете (таблица 2) у больных ХГРС, по сравнению со здоровыми, снижена концентрация IgA в 3 раза, резко увеличен уровень sIgA в 2 раза, а также повышено содержание Ig M в 4 раза. Уровень Ig G общ и его подклассов увеличен в среднем в 3,5 раза. У больных ХГРС следует обратить внимание на резкое увеличение концентрации sIgA, а также повышение уровня Ig M, Ig G общ и его подклассов. У больных ХГПРС в еще большей степени увеличен уровень sIg A, а также содержание Ig M, Ig G общ и его подклассов по сравнению с пациентами ХГРС.

Таблица 2 - Содержание иммуноглобулинов в назальном секрете здоровых и больных ХГРС и ХГПРС (M ±SD)

Параметры г/л	Здоровые n=20	ХГРС n=46	ХГПРС n=54
Ig A	0,46±0,02	0,6±0,01 P<0,05	0,51±0,03 P1<0,05 P2<0,05
sIg A	3,8±0,5	8,07±0,7 P<0,05	10,8±0,8 P1<0,05 P2<0,05
Ig M	0,01±0,0008	0,027±0,001 P<0,05	0,05±0,003 P1<0,05 P2<0,05

Ig G общ.	0,08±0,009	0,37±0,02 P<0,05	0,51±0,04 P1<0,05 P2<0,05
Ig G1	0,04±0,006	0,15±0,02 P<0,05	0,27±0,03 P1<0,05 P2<0,05
Ig G2	0,02±0,001	0,07±0,02 P<0,05	0,09±0,004 P1<0,05 P2<0,05
Ig G3	0,015±0,008	0,055±0,006 P<0,05	0,07±0,002 P1<0,05 P2□0,05
Ig G4	0,005±0,0001	0,01±0,0008 P<0,05	0,015±0,001 P1<0,05 P2□0,05

Примечание: P – статистическая значимость различий между здоровыми и больными ХГРС, P1 – статистическая значимость различий между здоровыми и больными ХГПРС, P2 – статистическая значимость различий между больными ХГРС и ХГПРС.

Выявленные сдвиги свидетельствуют об активации врожденного иммунитета, реализуемого в большей степени sIgA. Увеличение уровня sIg A, безусловно, будет сопровождаться повышением местной резистентности у больных ХГРС.

Уровень цитокинов в сыворотке крови здоровых, больных ХГРС и ХГПРС

У больных ХГРС в сыворотке крови возрастает содержание ИЛ-1β, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10 и ИФа. У больных ХГПРС содержание ИЛ-1β увеличивается, еще в большей степени, резко повышается уровень ИЛ-8 (таблица 3).

Таблица 3 - Содержание цитокинов в сыворотке крови здоровых, больных ХГРС и ХГПРС (M ±SD)

Параметры пг/мл	Здоровые n=20	ХГРС n=46	ХГПРС n=54
ИЛ-1β	1,40±0,48	10,1±0,6 P<0,05	12,2±0,7 P1<0,05 P2<0,05
ИЛ-2	4,46±0,62	6,0±0,7 P<0,05	7,40±1,03 P1<0,05 P2□0,05
ИЛ-4	0,5±0,32	0,6±0,4	0,8±0,05

		P<0,05	P1<0,05 P2<0,05
ИЛ-6	1,34±0,32	4,11±0,9 P<0,05	3,06±0,70 P1<0,05 P2<0,05
ИЛ-8	36,65±7,41	26,25±4,13 P<0,05	133,59±12,79 P1<0,05 P2<0,05
ИЛ-10	10,28±1,34	15,2±1,0 P<0,05	16,19±1,96 P1<0,05 P2<0,05
ИФ α	2,34±0,69	5,4±0,75 P<0,05	7,1±0,81 P1<0,05 P2<0,05
Примечание: P – статистическая значимость различий между здоровыми и больными ХГРС, P1 – статистическая значимость различий между здоровыми и больными ХГПРС, P2 – статистическая значимость различий между больными ХГРС и ХГПРС.			

Полученные факты указывают на возможность проникновения ИЛ из местного воспалительного очага в общий кровоток, что может свидетельствовать об относительной проницаемости «гематоназального» барьера. Другой механизм накопления цитокинов в сыворотке крови больных ХГРС и ХГПРС обусловлен присоединением компонентов системного воспалительного процесса, реализуемого резорбцией эндотоксинов микроорганизмов.

В назальном секрете (таблица 4) концентрация ИЛ-1 β у больных ХГРС увеличивается практически в 8 раз, а у больных ХГПРС – в 10 раз. Возрастает уровень ИЛ-2 и ИЛ-6 у больных ХГРС.

Таблица 4 - Содержание цитокинов в назальном секрете здоровых, больных ХГРС и ХГПРС (M \pm SD)

Параметры пг/мл	Здоровые n=20	ХГРС n=46	ХГПРС n=54
ИЛ-1 β	33,95±3,31	257,0±26,2 P<0,05	312,1±36,2 P1<0,05 P2<0,05
ИЛ-2	0,15±0,02	0,18±0,07 P<0,05	3,37±1,25 P1<0,05

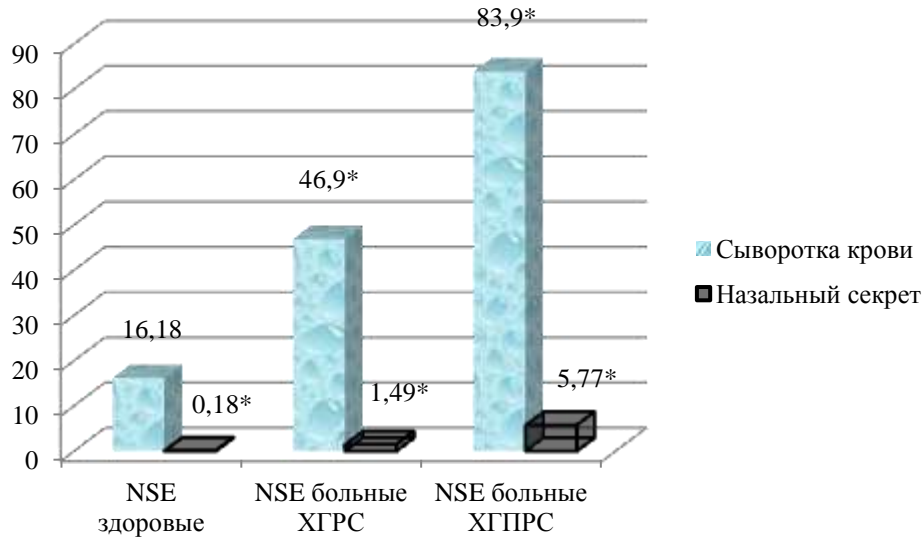
			P2<0,05
ИЛ-4	0,64±0,28	0,38±0,15 P<0,05	0,81±0,15 P1<0,05 P2<0,05
ИЛ-6	13,23±1,84	223,57±23,35 P<0,05	169,91±39,55 P1<0,05 P2<0,05
ИЛ-8	231,22±19,76	312,34±23,10 P<0,05	201,95±18,30 P1<0,05 P2<0,05
ИЛ-10	0,78±0,18	0,62±0,39 P<0,05	13,31±1,88 P1<0,05 P2<0,05
ИФ α	1,56±0,79	7,2±0,5 P<0,05	9,6±0,7 P1<0,05 P2<0,05
Примечание: P – статистическая значимость различий между здоровыми и больными ХГРС, P1 – статистическая значимость различий между здоровыми и больными ХГПРС, P2 – статистическая значимость различий между больными ХГРС и ХГПРС.			

Динамика ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8 и ИЛ-10 носит двухфазный характер: при ХГРС их содержание увеличивается, а при ХГПРС снижается.

Уровень NSE в сыворотке крови и назальном секрете у здоровых и больных ХГРС и ХГПРС

Установлено, что NSE обнаруживается в сыворотке крови доноров. Источником енолазы в системном кровотоке может быть как ЦНС, так и периферическая нервная система. Наряду со сказанным, определенный интерес представляет исследование содержания этого антигена у больных ХГРС и ХГПРС, что определяется возможностью реагирования нервных структур организма на локальный гнойный процесс.

На рисунке 1 показано, что сыворотке крови у больных ХГРС увеличивается уровень NSE практически в 3 раза и составляет $46,9 \pm 0,1$ пг/мл. Однако, при ХГПРС, содержание этого маркера увеличивается еще в большей степени и достигает $83,9 \pm 3,53$ пг/мл.



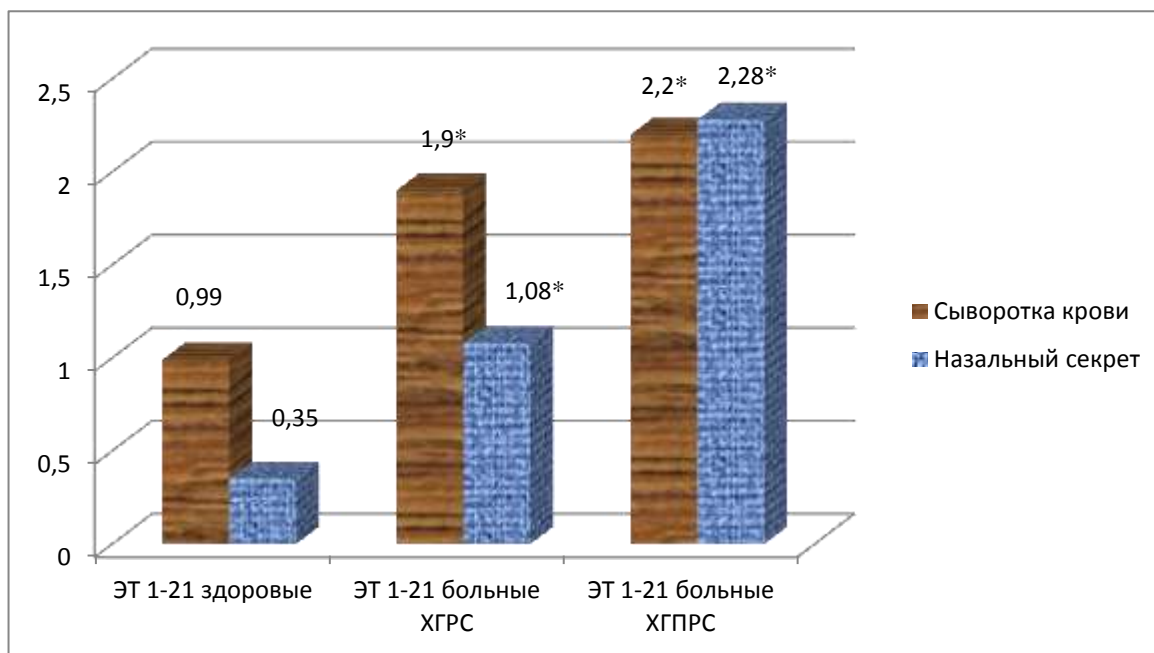
* - статистические значимые различия по сравнению с контролем $p < 0,05$

Рисунок 1 - Содержание NSE в сыворотке крови и назальном секрете у здоровых и больных ХРС.

В назальном секрете у больных ХГРС и ХГПРС так же увеличивается уровень NSE. Считается, что источником енолазы является периневральный ток ликвора, однако, не исключен и другой вариант накопления NSE в назальном секрете – трансудация из кровотока через «гематоназальный» барьер. Реальность этого механизма вполне допустима с учетом низкой молекулярной массы енолазы. Наконец, ожидаем и третий источник NSE в назальном секрете, которым могут служить окончания тройничного нерва в слизистой носа и ОНП, поврежденные в течение воспалительного процесса.

Содержание эндотелина в сыворотке крови и назальном секрете здоровых и больных ХГРС и ХГПРС

При развитии ХГРС в сыворотке крови возрастает ЭТ 1-21 и еще в большей степени при ХГПРС. Увеличение концентрации ЭТ 1-21, вероятно, связано с локальной дисфункцией эндотелия в сосудах слизистой оболочки носа и инициировано действием эндотоксина. В назальном секрете так же возрастает уровень ЭТ 1-21, причем максимальные цифры этого пептида зарегистрированы при ХГПРС (Рисунок 2).



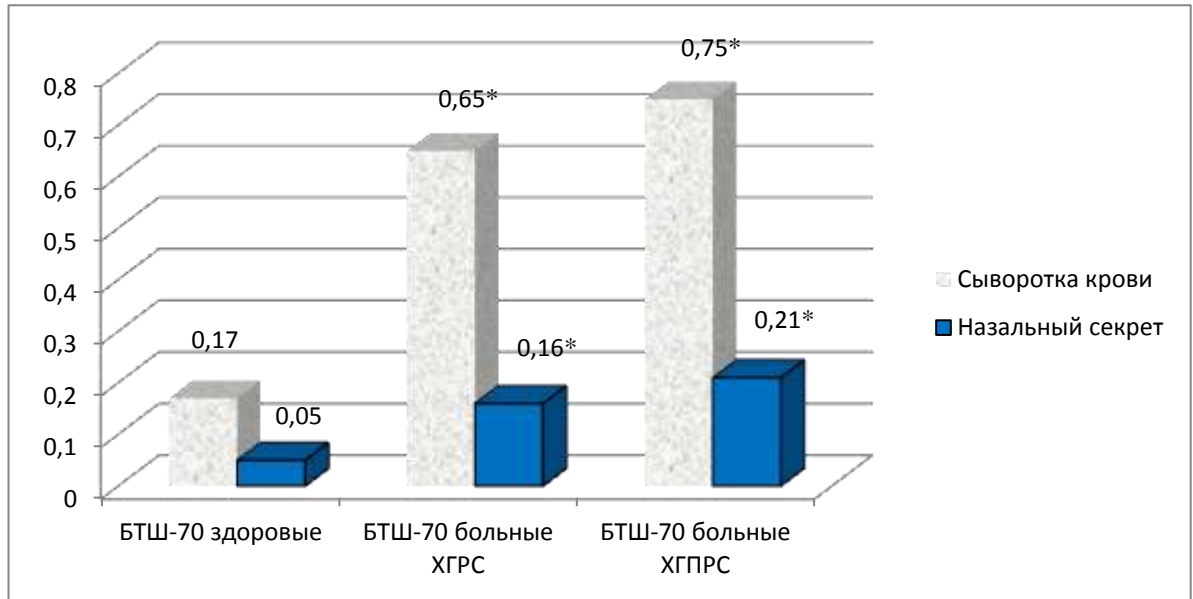
* - статистические значимые различия по сравнению с контролем $p < 0,05$

Рисунок 2 - Содержание эндотелина в сыворотке крови и назальном секрете у здоровых и больных ХРС.

На наш взгляд, накопление ЭТ 1-21 в назальном секрете не может не сопровождаться вазоконстрикторными реакциями в сосудах слизистой носа и ОНП. Последнее связано с образованием участков ишемии слизистой по периферии очага воспаления. Ишемизированная ткань обладает низкой резистентностью по отношению к протеолитическим атакам и повреждается. Тем самым увеличивается объем повреждающих клеток, т.е. усиливается альтернативная стадия воспаления. Следует указать, что в зонах вазоконстрикторной (эндотелиновой) ишемии снижаются реакции врожденного иммунитета и облегчается процесс инвазии патогенной флоры.

Уровень БТШ-70 в сыворотке крови и назальном секрете у здоровых и больных ХГРС и ХГПРС

При ХГРС, так и особенно при ХГПРС увеличивается концентрация БТШ-70 в сыворотке крови. При ХГРС уровень HSP-70 возрастает более чем в 3 раза, а при ХГПРС – в 5 раз. Концентрация БТШ-70 резко увеличивается и в назальном секрете больных ХГРС и ХГПРС (Рисунок 3).



* - статистические значимые различия по сравнению с контролем $p < 0,05$

Рисунок 3 - Содержание БТШ-70 в сыворотке крови и назальном секрете у здоровых и больных ХРС.

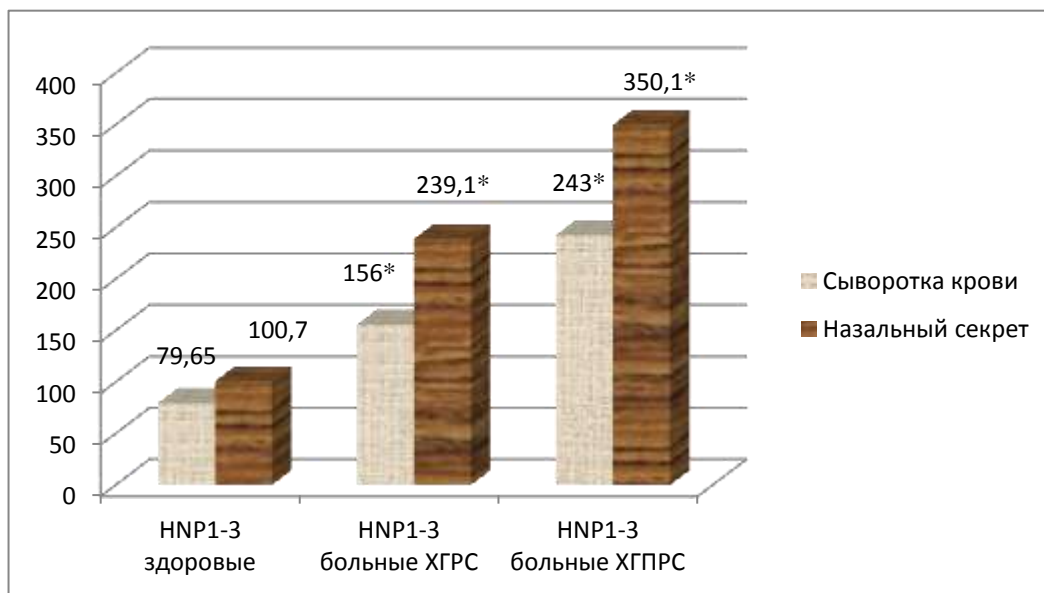
Динамику БТШ-70 следует расценивать как компенсаторную реакцию, характеризующую напряженность механизмов резистентности как клеток хозяина, так и патогенных микробов.

Уровень α -дефензинов в сыворотке крови и назальном секрете здоровых и больных ХГРС и ХГПРС

Уровень HNP 1-3 в сыворотке крови у больных ХГРС возрастает практически в 2 раза и составляет 156,00 нг/мл. Вместе с тем, у больных ХГПРС содержание этого пептида увеличивается еще в большей степени и достигает 243,00 нг/мл (Рисунок 4). Выявленная динамика HNP1-3 требует объяснения. На наш взгляд, увеличение этого пептида в кровотоке, по сути, отражает интенсивность гнойно-воспалительного процесса и свидетельствует о достаточно легком проникновении α -дефензинов через гистогематический барьер носа и ОНП в направлении слизь → кровотока.

В назальном секрете наблюдается аналогичная динамика концентрации HNP1-3. Совершенно очевидно, что нейтрофилы, мигрировавшие на поверхность слизистой носа и ОНП, активируются эндотоксинами, синтезируют и секретируют пул лизосомальных катионных белков, в т. ч. и α -дефензинов. Из этого следует, что концентрация HNP1-3,

особенно определяемых местно, т.е. в назальном секрете, свидетельствует об интенсивности воспалительного процесса.



* - статистические значимые различия по сравнению с контролем $p < 0,05$

Рисунок 4 - Содержание HNP1-3 в сыворотке крови и назальном секрете у здоровых и больных ХРС.

Прокоагулянтные свойства назального секрета у здоровых и больных ХГРС и ХГПРС

При внесении назального секрета больных в тест-плазму доноров обнаружено значительное сокращение времени рекальцификации, уменьшение АЧТВ и каолинового времени по сравнению с контролем.

Время рекальцификации уменьшается в 1,5 раза, АЧТВ – в 1,2 раза, а каолиновое время – в 1,3 раза.

Подобная динамика может свидетельствовать в пользу накопления прокоагулянта на слизистой носа. С одной стороны, выявленный сдвиг, безусловно, определяет повышенный гемостатический потенциал гнойного секрета. Однако, с другой стороны, полученный факт может указывать на достаточно высокий местный протеазный потенциал, реализуемый в т.ч. и ферментами гемостаза. Это обстоятельство несет патофизиологический смысл, так как локальное накопление протеаз, усиливающих

вторичную альтерацию на слизистой оболочке носа и ОНП при ХГРС и особенно при ХГПРС.

Прокоагулянтные свойства культуры моноцитов, инкубируемых с назальным секретом больных ХГРС и ХГПРС

Выявлено, что супернатант краткосрочной культуры донорских моноцитов, инкубируемых с назальным секретом больных ХГРС и ХГПРС, сокращает время рекальцификации и АЧТВ тест-плазм доноров по сравнению с контролем. Исследования показали, что время рекальцификации уменьшается в 2 раза, а АЧТВ – в 1,2 раза.

Усиление гемостатических свойств назального секрета больных ХГРС и ХГПРС обусловлено накоплением тканевого фактора, секретируемого из моноцитов, макрофагов и эпителиоцитов слизистой полости носа и ОНП, что визуализировано гистохимическим методом исследования.

Фагоцитарная активность нейтрофилов, инкубированных с назальным секретом

После инкубации с назальным секретом здоровых лиц ФЧ возрастает в 4 раза, а ФИ – в 2 раза. Активация нейтрофилов в этих условиях отражает стимулирующую активность назального секрета. Вместе с тем, слизь полости носа больных ХГРС и особенно ХГПРС в течение инкубации еще в большей степени увеличивает ФЧ и ФИ. Эти сдвиги, несомненно, свидетельствуют о высоких активаторных свойствах назального секрета больных с локальным гнойным воспалением.

Определение уровня аутоантител к различным антигенам

Показано, что в сыворотке крови закономерно обнаруживаются аАт класса Ig G практически ко всем цитокинам. Так, к ИЛ-1 β аАт выявляются как в сыворотке здоровых лиц, так и у больных ХГРС и ХГПРС. Причем, следует отметить, что чем выше содержание этого цитокина, тем в более высокой концентрации регистрируются аАт к этому антигену. Так, у здоровых лиц в назальном секрете регистрируются аАт практически ко всем ИЛ. Причем, выявлена определенная закономерность уровня аАт и концентрации конкретного ИЛ. Так, аАт к ИЛ-1 β в назальном секрете у здоровых лиц регистрируются в количестве $0,2 \pm 0,04$ ед. оптич. плотн. Вместе с тем, при ХГРС и ХПРС их содержание возрастает. Наряду с этим, уровень ИЛ-1 β возрастает при ХГРС и ХГПРС практически в 10 раз. Аналогичная закономерность обнаруживается в выявлении аАт к ИЛ-6 у здоровых лиц. Аутоантитела к ИЛ-6 регистрируются в концентрации $0,28 \pm 0,04$ ед.

оптич. плотн., а у больных ХГРС и ХГПРС их содержание уменьшается более, чем в 2 раза. Следует отметить, что концентрация ИЛ-6 при этих заболеваниях увеличивается в 20 раз. Вместе с тем, в других исследованиях продемонстрирована обратная реакция. Так, уровень аАт к ИЛ-2 и ИЛ-10 отражает иммуностимулирующий эффект увеличенной концентрации цитокинов.

При исследовании аАт к NSE в сыворотке крови у больных ХГРС уровень аАт к этому антигену увеличивается в 4 раза, а у пациентов ХГПРС резко снижается. Такая динамика образования аАт ожидаема, как указано выше, при ХГРС увеличивается концентрация NSE в сыворотке крови и, следовательно, интенсифицируется иммунный ответ, что находит отражение в четырехкратном увеличении уровня аАт. Однако у больных ХГПРС концентрация NSE возрастает еще в большей степени, и при этом происходит снижение уровня аАт в сыворотке крови. Последнее может быть объяснено только лишь образованием иммунных комплексов и «потреблением» аАт. Примерно аналогичная картина зарегистрирована и в назальном секрете у больных ХГРС. В этой группе пациентов концентрация аАт возрастает, а при ХГПРС снижается. Эта закономерность, на наш взгляд, также объясняется иммуностимулирующим эффектом средней концентрации NSE при ХГРС и «потреблением» аАт высокими дозами енолазы при ХГПРС.

С учетом особенности топографии распределения MAG в периферической нервной системе и возможным вовлечением окончаний обонятельного нерва в процесс альтерации при ХГРС и ХГПРС, представилось интересным оценить уровень MAG при этих состояниях. Представлено содержание АНТИ-MAG Аат в сыворотке крови и назальном секрете у больных хроническими риносинуситами. Оказалось, что при ХГРС возрастает, а при ХГПРС снижается содержание АНТИ-MAG Аат в назальном секрете.

Одним из механизмов элиминации эндотоксина могут служить аАт, направленные против антигенных эпитопов ЭТ 1-21. Действительно, как в сыворотке крови, так и назальном секрете закономерно выявляются аАт к ЭТ 1-21, которые, вероятно, элиминируют этот пептид. Очевидно, что локальное снижение концентрации ЭТ 1-21 будет сопровождаться улучшением микроциркуляции в зоне гнойного воспаления. С другой стороны, как показано ранее, часть пула выявленных аАт обладают абзимной активностью. Таким образом, ЭТ 1-21 элиминируется по двум механизмам: с образованием классических ИК и абзимами - аАт.

Показано, что аАт класса Ig G к БТШ-70 увеличиваются в сыворотке крови больных ХГРС и в большей степени ХГПРС, а в назальном секрете практически не меняются. Не исключено, что при этом происходит образование ИК, особенно патофизиологически значимых, локально, *in situ*, в месте гнойного воспаления. Следует предположить, что ИК через F-с рецепторы иммобилизуются на поверхности эпителия слизистой эндотелия, провоспалительных клетках и усиливают деструктивную фазу воспаления за счет комплементарных и других механизмов. Таким образом, HSP-70, с одной стороны, повышают как системную, так и местную резистентность, а с другой стороны, выступают триггерами воспаления за счет образования ИК и углубления альтернативной фазы.

Местная и общая резистентность на фоне стандартного и предложенного методов лечения больных ХГРС

Стандартная консервативная терапия проводилась, как описано выше. Суть предложенного метода заключалась в следующем. Ежедневно, на протяжении всего пятидневного курса лечения, у пациентов в утренние часы забирали кровь из локтевой вены в пробирки с гепарином. В полученные образцы добавляли 0,01% раствор тимогена (10 мкг на 1мл крови) и инкубировали смесь в течение часа при комнатной температуре. Две фракции – плазму крови и слой лейкоцитов, разводили физиологическим раствором в соотношении 1:10 и вводили пациентам в гайморовы пазухи, посредством заранее установленных дренажей или через синус-катетер. Предварительно пазухи промывали 0,9% раствором натрия хлорида в объеме 20 мл. Необходимо отметить, что описанный способ терапии проводили на фоне продолжающегося стандартного медикаментозного лечения.

После курса общепринятой терапии концентрация IgA и sIgA практически не меняется в сыворотке крови. После стимуляции аутолейкоцитов тимогеном и введения их в ОНП, содержание IgA, sIgA увеличивается. Этот сдвиг может свидетельствовать об изменении иммунологических реакций в организме. В назальном секрете после стандартной и особенно предложенной терапии концентрация вышеуказанных иммуноглобулинов также возрастает.

При общепринятой терапии на 5 – 7 день лечения в сыворотке крови зарегистрировано повышение уровня ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 и ИФ α . Однако при предложенном способе лечения в назальном секрете резко снижается концентрация ИЛ-1 β и ИЛ-8, увеличивается

уровень противовоспалительных цитокинов ИЛ-4, ИЛ-10 и ИФ α . У больных, которых лечили предложенным методом, гайморовы пазухи были санированы на 3 – 5 сутки. В то же время стандартная терапия давала положительный эффект на 7 – 8 день.

На фоне как стандартной, так и особенно предложенной терапии концентрация HSP-70 возрастает как в сыворотке крови, так и назальном секрете. Увеличение уровня этого шаперона может свидетельствовать о повышении местной резистентности.

Интенсификация воспалительной реакции не может не сопровождаться изменением уровня вазомоторного пептида – ЭТ 1-21. И действительно, на фоне воспаления концентрация этого вещества возрасла, а при стандартной и предложенной терапии снижалась. Усиление синтеза ЭТ 1-21 отражает эндотелиальную дисфункцию, вызванную различными повреждающими агентами, генерирующими воспалительную реакцию, в том числе протеазами лейкоцитов и иммунными комплексами, образованными *in situ*.

После лечения и особенно на фоне предложенной терапии, уровень HNP1-3 снижается как в сыворотке крови, так и назальном секрете, что может свидетельствовать в пользу снижения процесса альтерации в зоне воспаления.

На фоне терапии больных ХГРС уровень NSE снижается в назальных секретах, особенно после предварительной инкубации тимогеном, что свидетельствует в пользу снижения остроты воспалительного процесса.

При исследовании аутоантител к другому нейромаркеру оказалось, что содержание АНТИ-MAG Аат возрастает как в сыворотке крови, так и назальном секрете. Выявленная реакция свидетельствует об усилении регуляторных механизмов в системе иммунитета и, в общем, отражает эффективность саногенетических реакций.

Мы провели оценку жалоб пациентов по модифицированной бальной системе V.J. Lund и D.W. Kennedy (1995). При сравнении двух методов лечения оказалось, что у больных, которых лечили стандартными методиками, суммарный бал составил $1,39 \pm 0,33$, а в группе пациентов, получающих предложенную терапию, – $0,44 \pm 0,005$. Пациенты последней группы значительно реже предъявляли жалобы на нарушение обоняния, выделения из носа слизистого характера, затруднение дыхания через нос.

Изменение уровня аАт к различным антигенам на фоне лечения ХГРС

Уровень аАт обоих классов к IL-1 β и IL-2 как в сыворотке крови, так и назальном секрете имеют разнонаправленное изменение. Такой сдвиг может свидетельствовать в

пользу специфического иммунного ответа к данным ИЛ, и, следовательно, усилению их элиминации из организма. На наш взгляд, такая реакция может отображать интенсивность саногенетических реакций, направленных на уменьшение степени воспаления. Следует указать, что не выявлено четкой динамики уровня аАт к противовоспалительным цитокинам IL-4, IL-10, что может свидетельствовать в пользу их незначительной элиминации противовоспалительных цитокинов в финале воспаления.

После лечения возрастают аАт обоих классов к NSE, а антиMAG аАт снижаются как в сыворотке крови, так и назальном секрете. После терапии той и другой технологии увеличивается уровень аАт к ЭТ 1-21, и возрастает количество аАт класса sIgA к БТШ-70.

Приведенные данные позволяют с большой долей вероятности указывать на роль аАт к различным антигенам в патогенезе местного воспаления. При предложенном методе терапии в назальном секрете мы всегда регистрировали повышенный уровень Ig всех классов. Параллельно с этим к большинству антигенов возрастает уровень аАт. Не подлежит никакому сомнению, что прирост концентрации Ig является местным отражением роста уровня аАт. Безусловно, эту реакцию реализуют лимфоциты, активированные *in vitro* тимогеном, и благодаря чему усиливается местный синтез Ig.

Таким образом, представленные нами данные свидетельствуют о важной роли различных компонентов мукозного иммунитета и других биологических активных соединений в резистентности полости носа и ОНП. Так, нами установлено, что местную защиту полости носа и ОНП определяют Ig, цитокины, БТШ-70, α -дефензины, нейтрофилы, нейронспецифическая енолаза и аутоантитела к ним.

В динамике развития ХРС выявляются закономерные изменения исследуемых соединений, свидетельствующих об их активном участии в патогенезе этого заболевания. Несомненно, то, что образующиеся ИК, как результат элиминации биологических активных веществ из слизистой полости носа и ОНП, запускают новые звенья ХРС.

ВЫВОДЫ

1. В назальном секрете здоровых лиц выявляются иммуноглобулины всех классов в меньшей концентрации, нежели чем в сыворотке крови, за исключением sIgA, уровень которого в 77 раз превышает его сывороточное содержание.

При развитии хронического гнойного риносинусита в назальном секрете увеличивается содержание общего иммуноглобулина G и иммуноглобулина M и резко возрастает уровень секреторного иммуноглобулина A. При хроническом гнойно-полипозном риносинусите концентрация секреторного иммуноглобулина A выше по сравнению с больными хроническим гнойным риносинуситом. На фоне терапии методом активации аутолейкоцитов крови тимогеном повышается уровень иммуноглобулина A, sIgA в сыворотке крови, а так же концентрация секреторного иммуноглобулина A, иммуноглобулинов M, G в носовом смыве.

2. В назальном секрете здоровых лиц увеличена концентрация провоспалительных цитокинов по сравнению с их сывороточным содержанием. У больных хроническим гнойным риносинуситом уровень интерлейкинов 1 β , 2, 6, 8 и интерферона α в носовом смыве увеличивается в еще большей степени. При предложенном способе лечения содержание интерлейкинов 1 β , 6, 8 в назальном секрете снижается, а интерлейкинов 2, 4, 10 и интерферона α повышается, что свидетельствует об уменьшении интенсивности патологического процесса в полости носа.

3. В сыворотке крови и назальном секрете здоровых и больных хроническими риносинуситами выявляются аутоантитела к исследуемым цитокинам. Причем, в крови аутоантитела представлены классом иммуноглобулина G, а в слизи – секреторным иммуноглобулином A. При обострении хронических риносинуситов уровень аутоантител как в сыворотке крови, так и назальном секрете имел разнонаправленное изменение. После проведения иммунокорректирующей терапии, как в сыворотке крови, так и назальном секрете уровень аутоантител к исследуемым антигенам изменяется так же неоднозначно, что отражает различные стадии антителообразования и скорости формирования иммунных комплексов.

4. В сыворотке крови и в меньшей степени в назальном секрете здоровых лиц выявляется нейронспецифическая енолаза, концентрация которой возрастает при обострении хронических риносинуситов. Особенно уровень этого маркера увеличивается

при хроническом гнойно-полипозном риносинусите. После лечения больных хроническим гнойным риносинуситом уровень нейронспецифической енолазы снижается как в сыворотке крови, так и в назальных секретах, особенно после проведения предложенной терапии. К нейронспецифической енолазе выявляются аутоантитела класса иммуноглобулина G в сыворотке крови и класса секреторного иммуноглобулина A в носовом смыве. При воспалении концентрация аутоантител к нейронспецифической енолазе увеличивается в исследуемых биологических жидкостях. При стандартном и предложенном способе лечения содержание аутоантител к нейронспецифической енолазе возрастает как в сыворотке крови, так и в назальном секрете.

5. В сыворотке крови и назальном секрете здоровых пациентов зарегистрированы АНТИ-MAG аутоантитела, концентрация которых при хроническом гнойном риносинусите увеличивается в слизи полости носа и снижается при хроническом гнойно-полипозном риносинусите. Иммунокорригирующая терапия сопровождается снижением уровня АНТИ-MAG аутоантител в назальном секрете.

6. В сыворотке крови и в меньшей степени в назальном секрете здоровых лиц выявляется эндотелин, уровень которого возрастает особенно у больных хроническим гнойно-полипозным риносинуситом. При стандартной и предложенной терапии концентрация этого антигена снижается как в сыворотке крови, так и в назальном секрете. В слизи полости носа больных хроническим гнойным риносинуситом и больных хроническим гнойно-полипозным риносинуситом резко увеличивается уровень аутоантител класса секреторного иммуноглобулина A в носовом смыве к эндотелину. На фоне предложенного лечения содержание аАт к ЭТ 1-21 возрастает.

7. Концентрация белка теплового шока-70 увеличивается при хроническом гнойном риносинусите и его уровень особенно высок при полипозном риносинусите. Одновременно при этом повышается концентрация аутоантител к белку теплового шока-70, относящихся к классу Ig G. Как при стандартном методе терапии, так и при местном использовании аутологичных лимфоцитов, инкубированных с тимогеном, содержание аутоантител к белку теплового шока-70 в крови снижается.

8. У здоровых лиц α -дефензины определяются как в сыворотке крови, так и в большей степени в назальном секрете. У больных хроническим гнойным риносинуситом уровень дефензинов возрастает в сыворотке крови и, особенно резко в назальном секрете.

При предложенной терапии концентрация α -дефензинов снижается как в сыворотке крови, так и в слизи полости носа.

9. Секрет полости носа обладает прокоагулянтной активностью, обусловленной экспрессией тканевого фактора эпителиальными клетками слизистой. При обострении хронических риносинуситов коагуляционный потенциал и экспрессия тканевого фактора возрастает как в эпителии, так и нейтрофилах назальной полости.

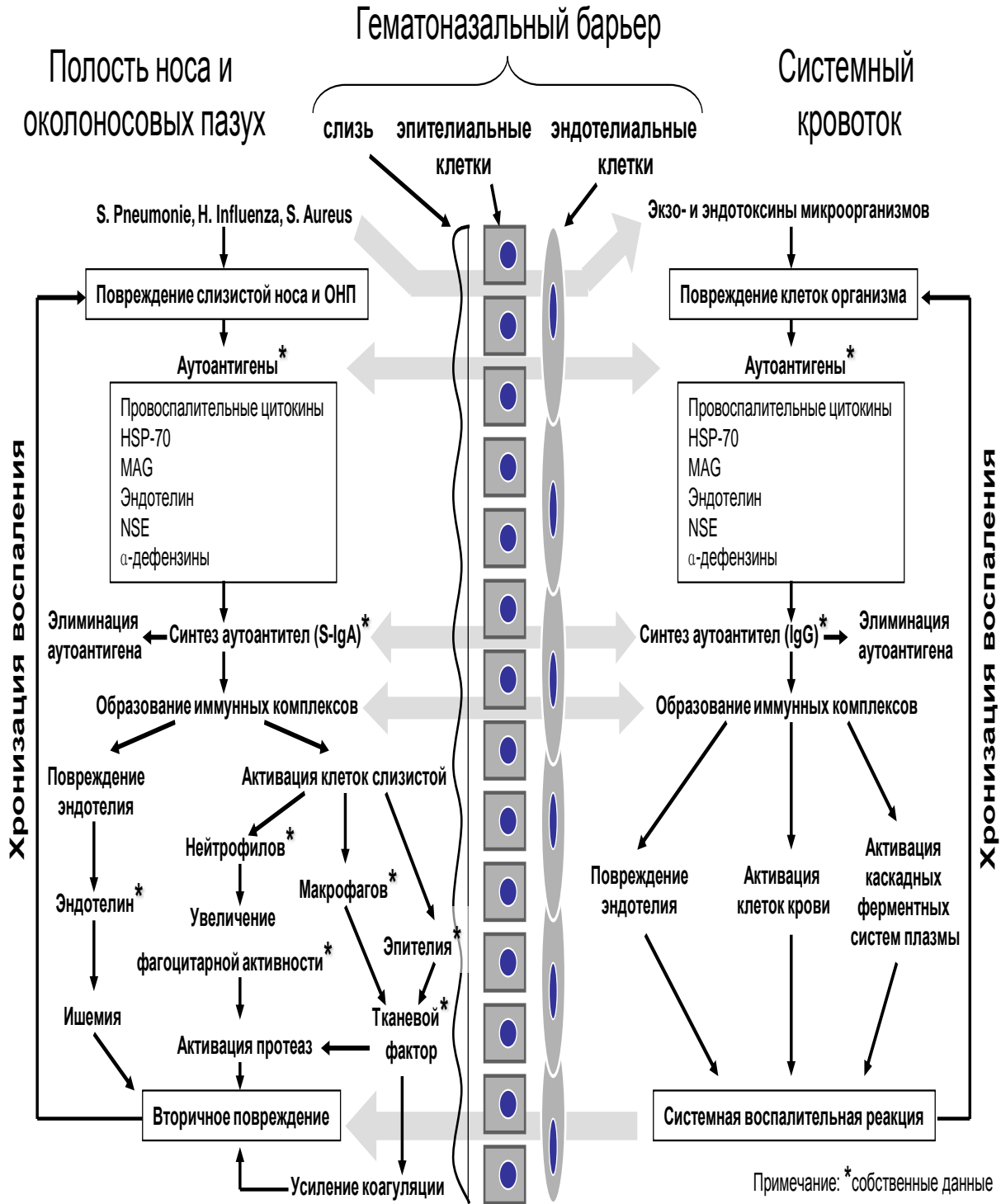
10. Назальный секрет стимулирует фагоцитарную активность интактных лейкоцитов периферической крови доноров. Стимулирующая активность слизи возрастает при хронических риносинуситах.

11. В патогенезе хронизации хронических риносинуситов участвуют цитокины, нейромаркеры, белок теплового шока (HSP-70), эндотелин, α -дефензины и аутоантитела классов IgG и sIgA к ним, формирующих порочный круг перманентного воспаления полости носа и определяющих клинику воспаления.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендуется использовать определение уровня цитокинов, эндотелина 1-21 и белков теплового шока в назальном секрете для оценки динамики развития воспалительного процесса в полости носа и околоносовых пазухах у больных хроническими гнойными риносинуситами.
2. У пациентов хроническими гнойными и гнойно-полипозными риносинуситами показано включение в местную терапию оригинального метода, который заключается в активации аутолейкоцитов тимогеном и последующим их введением в околоносовые пазухи, позволяющего улучшить клиническую симптоматику и длительную ремиссию заболевания.

Концептуальная схема патогенеза ХРС



**СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ
ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

**Публикации в ведущих научных рецензируемых журналах, определенных ВАК
Минобрнауки России (15 статей):**

1. Цыбиков, Н.Н. Уровень нейроспецифической енолазы в сыворотке крови и назальном секрете при черепно-мозговой травме и хронических ринитах / Н.Н. Цыбиков, Е.В. Егорова, Е.В. Пруткина // Российская оториноларингология. – 2009. – № 5 (42). – С. 130-133.
2. Цыбиков, Н.Н. Уровень эндотелина-1 в сыворотке крови и назальном секрете у больных хроническим ринитом / Н.Н. Цыбиков, Е.В. Егорова, Е.В. Пруткина // Вестник оториноларингологии – 2010. – № 6. – С. 19-20.
3. Уровень цитокинов и аутоантител к ним в сыворотке крови и назальном секрете при хроническом полипозном риносинусите / Н.Н. Цыбиков, Е.В. Егорова [и др.] // Дальневосточный медицинский журнал – 2010. – № 1. – С. 67-69.
4. Егорова, Е.В. Маркер повреждения мозга-NSE в крови и носовом секрете у больных с черепно-мозговой травмой и хроническими ринитами / Е.В. Егорова, Н.Н. Цыбиков, Р.П. Свирский // Кубанский научный медицинский вестник – 2010. – № 3 – 4 (117 – 118). – С. 63-65.
5. Цыбиков, Н.Н. Белок теплового шока HSP-70 и аутоантитела к нему при хроническом гнойном риносинусите / Н.Н. Цыбиков, Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин // Рос. оториноларингология – 2011. – № 6 (55). – С. 183-186.
6. Егорова, Е.В. Нейронспецифическая енолаза и аутоантитела в сыворотке крови и назальном секрете у больных хроническими гнойными риносинуситами / Е.В. Егорова, Н.Н. Цыбиков, В.И. Пересторонин // Российская ринология. – 2011. – № 4. – С. 4-5.
7. Цыбиков, Н.Н. Эндотелин 1-21 и аутоантитела в сыворотке крови и назальном секрете у больных хроническими гнойными риносинуситами / Н.Н. Цыбиков, Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН – 2011. – № 5 (81). – С. 118-120.
8. Егорова, Е.В. Участие шаперона-HSP-70 и аутоантител к нему в развитии хронического гнойного риносинусита / Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин, Н.Н.

- Цыбиков // Забайкальский медицинский вестник [Электронный ресурс] – 2012. – № 2. – С. 20-22. Режим доступа: <http://medacadem.chita.ru/zmv2>.
9. Егорова, Е.В. Содержание α -дефензинов в сыворотке крови и назальном секрете у здоровых и больных хроническим гнойным риносинуситом / Е.В. Егорова, Н.Н. Цыбиков, В.И. Пересторонин // Сибирский мед. журнал– 2012. – № 8. – С. 76-78.
 10. Цыбиков, Н.Н. Нейромаркеры у больных хроническими гнойными риносинуситами / Н.Н. Цыбиков, Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин // Дальневосточный медицинский журнал – 2012. – № 2. – С. 84-86.
 11. Егорова, Е.В. Экстракорпоральная стимуляция аутолейкоцитов в лечении хронических гнойных риносинуситов / Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин, Н.Н. Цыбиков // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 12. – С. 250-254.
 12. Егорова, Е.В. Патогенетические механизмы формирования ХГРС, реализуемые белком теплового шока HSP-70 и аутоантителами к нему / Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин, Н.Н. Цыбиков // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 2. – С. 45-48.
 13. Егорова, Е.В. Уровень цитокинов и аутоантител к ним в сыворотке крови и назальном секрете у больных хроническим гнойным риносинуситом / Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин, Н.Н. Цыбиков // Врач-аспирант. – 2013. – №1.1(56). – С. 179-182.
 14. Изменение фагоцитарной активности нейтрофилов у больных хроническим гнойным риносинуситом после местного применения трансфер фактора / Е.В. Егорова, Н.Н. Цыбиков, В.И. Пересторонин [и др.] // Российская ринология. – 2011. – № 2. – С. 11-12.
 15. Егорова, Е.В. Антимикробные пептиды нейтрофилов в сыворотке крови и назальном секрете у здоровых и больных хроническим гнойным риносинуситом на фоне лечения / Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин, Н.Н. Цыбиков // Врач-аспирант. – 2013. – № 5.2 (60). – С. 299-302.

Публикации в прочих изданиях:

16. Егорова, Е.В. Особенности содержания нейроспецифической енолазы в назальном секрете у больных черепно-мозговой травмой и некоторых форм хронических

- ринитов / Е.В. Егорова, Н.Н. Цыбиков // Материалы VIII Всерос. научно-практич. Конф. оториноларингологов. – Москва, 2009. – С. 162-164.
17. Влияние «Трансфер Фактора» на местный гемостаз в полости носа у больных хроническим ринитом / Н.Н. Цыбиков, Е.В. Егорова [и др.] // Материалы Международной научно-практической конференции «Питание и здоровье». – Алматы, 2010. – С. 196-197.
18. Егорова, Е.В. Содержание белка теплового шока HSP-70 и аутоантител к нему у больных хроническим гнойным риносинуситом / Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин, Н.Н. Цыбиков // Вопросы патогенеза типовых патологических процессов: тез. докл. III Всерос. Научно-практ. конференции с международным участием. – Новосибирск, 2011. – С. 79-82.
19. Изменение активности нейтрофилов у больных хроническим гнойным риносинуситом после местного применения трансфер фактора / Е.В. Егорова [и др.] // Материалы X региональной межвузовской научно-практической конференции молодых ученых. – Чита, 2011. – С. 173-174.
20. Динамика иммуноглобулинов в сыворотке крови и назальном секрете больных хроническим гнойным риносинуситом после местного применения трансфер фактора / Е.В. Егорова [и др.] // Российская ринология. – 2011. – № 2. – С. 11.
21. Цыбиков, Н.Н. Катионные противомикробные пептиды у больных хроническим гнойным риносинуситом / Н.Н. Цыбиков, Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин // Материалы IV Международной конференции «Инновационные идеи и технологии». – Алматы, 2011. – С. 322-323.
22. Егорова, Е.В. Содержание противомикробных пептидов в сыворотке крови и назальном секрете у здоровых и больных хроническим гнойным риносинуситом / Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин, Н.Н. Цыбиков // Вопросы патогенеза типовых патологических процессов: тез. докл. IV Всерос. Научно-практ. Конференции с международным участием. – Новосибирск, 2012. – С. 73-75.
23. Егорова, Е.В. Роль стресс-белка HSP-70 в формировании хронического гнойного риносинусита / Е.В. Егорова, Н.Н. Цыбиков // Забайкальский медицинский журнал. – 2012. – № 3. – С. 34-35.

24. Егорова, Е.В. Роль цитокинов и аутоантител к ним в сыворотке крови и назальном секрете в патогенезе хронического гнойного риносинусита / Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин, Н.Н. Цыбиков // Материалы IV Конгресса хирургов Казахстана «Новые технологии в хирургии». – Алматы, 2013. – С. 162.
25. Цыбиков, Н.Н. Способ консервативного лечения хронических гнойных риносинуситов путем стимуляции аутолейкоцитов / Н.Н. Цыбиков, Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин // Материалы IV Конгресса хирургов Казахстана «Новые технологии в хирургии». – Алматы, 2013. – С. 162-163.
26. Егорова, Е.В. Изменение содержания иммуноглобулинов в сыворотке крови и назальном секрете у больных хроническим гнойным риносинуситом на фоне лечения / Е.В. Егорова // Материалы 51-й Международной научной студенческой конференции «Студент и научно-студенческий прогресс». – Новосибирск, 2013. – С. 12-13.
27. Егорова, Е.В. Нейронспецифическая енолаза и хронический риносинусит / Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин, Н.Н. Цыбиков // Материалы за IX Международна научна практична конференция «Новината за напреднали наука-2013». – «Бял ГРАД-БГ» ООД, 2013. – Т. 43. – С. 63-66.
28. Егорова, Е.В. Цитокиновый профиль и аутоантитела в сыворотке крови и носовом секрете у больных хроническим гнойным риносинуситом / Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин, Н.Н. Цыбиков // Материалы II Петербургского форума оториноларингологов России. – СПб, 2013. – С. 249.
29. Егорова, Е.В. Методика лечения хронических гнойных риносинуситов способом экстракорпоральной стимуляции аутолейкоцитов тимогеном / Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин, Н.Н. Цыбиков // Материалы II Петербургского форума оториноларингологов России. – СПб, 2013. – С. 250.
30. Егорова, Е.В. Содержание аутоантител к эндотелину 1-21 в сыворотке крови и назальном секрете больных хроническим риносинуситом / Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин, Н.Н. Цыбиков // Materialy IX Miedzynarodowej naukowii-praktyczney “Europeyska nauka – 2013” – Przemysl Nauka I studia, 2013. – Vol. 23 – С. 56-59.
31. Егорова, Е.В. Коагулологическая активность краткосрочной культуры моноцитов у больных хроническими риносинуситами / Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин, Н.Н.

- Цыбиков // *Materialy IX Miedzynarodowej naukowii-praktyczney "Europeyska nauka – 2013"* — Przemysl Nauka I studia, 2013. – Vol. 23 – С. 61-64.
32. Егорова, Е.В. Иммуноглобулины и хронический гнойный риносинусит / Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин, Н.Н. Цыбиков // *Materialy IX mezinarodni vedecko-praktika conference "Efektivni nastroye modernich ved – 2013"*. – Praha, 2013. – Dil. 35 – С. 34-38.
33. Егорова, Е.В. Роль белков теплового шока в местной резистентности полости носа и околоносовых пазух / Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин, Н.Н. Цыбиков // *Materialy IX mezinarodni vedecko-praktika conference "Efektivni nastroye modernich ved – 2013"*. – Praha, 2013. – Dil. 34 – С. 53-55.
34. Егорова, Е.В. Фагоцитарная активность нейтрофилов у больных хроническим гнойным риносинуситом / Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин, Н.Н. Цыбиков // *Materialy IX mezinarodni vedecko-praktika conference "Efektivni nastroye modernich ved – 2013"*. – Praha, 2013. – Dil. 34 – С. 78-81.
35. Егорова, Е.В. Коагулологическая активность секретов слизистой носа у здоровых и больных хроническими риносинуситами / Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин, Н.Н. Цыбиков // *Materialy IX mezinarodni vedecko-praktika conference "Efektivni nastroye modernich ved – 2013"*. – Praha, 2013. – Dil. 34 – С. 75-78.
36. Егорова, Е.В. Аутоантитела к белку теплового шока HSP-70 в сыворотке крови и назальном секрете у больных хроническим гнойным риносинуситом / Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин, Н.Н. Цыбиков // *Materialy IX mezinarodni vedecko-praktika conference "Efektivni nastroye modernich ved – 2013"*. – Praha, 2013. – Dil. 34 – С. 56-59.
37. Егорова, Е.В. Активация лейкоцитов *in vitro* тимогеном, как способ лечения хронических гнойных риносинуситов / Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин, Н.Н. Цыбиков // *Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої Всесвітньому дню здоров'я 2013. – Східноєвропейський журнал громадського здоров'я. – 2013. – № 1(21). – С. 142-143.*
38. Егорова, Е.В. Изменение уровня HNP 1-3 в сыворотке крови и назальном секрете у здоровых и больных хроническим гнойным риносинуситом на фоне лечения / Е.В. Егорова, В.И. Пересторонин, Н.Н. Цыбиков // *Матеріали Міжнародної науково-*

- практичної конференції, присвяченої Всесвітньому дню здоров'я 2013. – Східноєвропейський журнал громадського здоров'я– 2013. – № 1(21). – С. 143-144.
39. Егорова, Е.В. Состояние мукозного иммунитета полости носа и околоносовых пазух у здоровых добровольцев / Е.В. Егорова [и др.] // Материалы всероссийской научно-практической конференции, посвященной 60-летию Читинской государственной медицинской академии. – Чита, 2013. – Т. 1. – С. 178-182.
40. Изменение цитокинового профиля в сыворотке крови и назальном секрете у больных хроническим гнойным риносинуситом на фоне иммуномодулирующей терапии / С.А. Карпищенко [и др.] // Российская ринология. – 2014. – № 3. – С. 49-50.
41. Альфа-дефензины и хронический гнойный риносинусит / С.А. Карпищенко [и др.] // Российская ринология. – 2014. – № 3. – С. 50-51.
42. Лечение хронических гнойных риносинуситов методом стимуляции аутолейкоцитов крови тимогеном / С.А. Карпищенко [и др.] // Folia Otorhinolaryngologiae et Pathologiae Respiratoriae (Журнал оториноларингологии и респираторной патологии). – Vol. 20. – № 3. –2014. – С. 29–31.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЧТВ	– активированное частичное тромбопластиновое время
АаТ	– аутоантитела
АНТИ-MAG аАт	– анти- маг – аутоантитела
ИК	– иммунные комплексы
ИЛ,IL	– интерлейкин
ОМП	– околоносовые пазухи
ПРС	– полипозный риносинусит
ХГРС	– хронический гнойный риносинусит
ХГПРС	– хронический гнойно-полипозный риносинусит
ХРС+НП	– хронический риносинусит с назальным полипозом
ХРС-НП	– хронический риносинусит без полипоза
ХС	– хронический синусит
ФИ	– фагоцитарный индекс
ФЧ	– фагоцитарное число
ЭТ	– эндотелин
ФНО, FNO- α	– фактор некроза опухоли – альфа
Ig	– иммуноглобулин
Fc-	– рецептор к Fc- фрагменту иммуноглобулина
MAG	– миелин-ассоциированный гликопротеин
NSE	– нейронспецифическая енолаза
sIg	– секреторный иммуноглобулин
HSP-70	– белок теплового шока
HNP 1-3, α -дефензины	– антимикробный пептид